

UHT 破壁松花粉储藏过程中的异味产生机制

赵巧丽¹, 刘其聿², 石丽华², 闪月¹, 李进伟¹, 刘元法¹

(1. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214122) (2. 烟台新时代健康产业有限公司, 山东烟台 264006)

摘要: 以超高温瞬时灭菌 (UHT) 破壁松花粉为原料, 研究其在储藏期间基本营养成分、常见氧化指标和挥发性成分的变化, 并分析了其在储藏期间的异味产生原因和主要异味成分。结果表明, 储藏 30 d 后, UHT 破壁松花粉的粗脂肪和不饱和脂肪酸相对含量分别降低 31.37% 和 14.03%, 游离脂肪酸和饱和脂肪酸相对含量分别升高 38.78% 和 32.34%, 粗蛋白、总糖及氨基酸含量未发生明显变化; 储藏初期, UHT 破壁松花粉中游离脂肪酸含量较低, 8 d 后迅速增加, 并在 30 d 时达到 9.53 mg/kg; 过氧化值和硫代巴比妥酸值随着储藏时间的延长均呈先升高后降低趋势, 并在 3 d 和 5 d 时分别达到最大值 6.09 meq/kg 和 34.52 mg/kg。此外, UHT 破壁松花粉储藏期间主要挥发性成分含量不断增加, 且以己醛和己酸变化最为显著, 5 d 后分别增至 12.69 $\mu\text{g/g}$ 和 10.51 $\mu\text{g/g}$ 。说明 UHT 破壁松花粉储藏过程中的异味主要由油脂氧化产生, 且储藏前期氧化较为剧烈, 油脂氧化的二级氧化产物己醛和己酸是破壁松花粉储藏过程中产生的主要挥发性成分, 也是异味产生的一个重要原因。

关键词: 松花粉; 异味; 机理; 油脂氧化

文章编号: 1673-9078(2020)01-43-51

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2020.1.007

Mechanisms Underlying Off-flavor Production in UHT-enabled Wall-breaking Pine Pollen during Storage

ZHAO Qiao-li¹, LIU Qi-song², SHI Li-hua², SHAN Yue¹, LI Jin-wei¹, LIU Yuan-fa¹

(1. Food College, Jiangnan University, Wuxi 214122, China)

(2. Yantai New Era Health Industry Co. Ltd., Yantai 264006, China)

Abstract: The changes in the essential nutrients, common oxidation indices and volatile constituents, along with the causes of odor generation and the main off-flavor components, were investigated during the storage of ultra-high temperature instantaneous sterilization (UHT)-enabled wall-breaking pine pollen. The results showed that after a 30-day storage, the contents of crude fat and unsaturated fatty acids decreased by 31.37% and 14.03%, respectively, and the relative contents of free fatty acids and saturated fatty acids increased by 38.78% and 32.34%, respectively, with the contents of crude proteins, total sugars and amino acids remaining unchanged. In the early stage of storage, the content of free fatty acids in the UHT-enabled wall-breaking pine pollen was lower, but increased sharply after 8 days and reached 9.53 mg/kg at the 30th day. The peroxide value and thiobarbituric acid value increased first and then decreased with the prolongation of storage, and reached the maximum, 6.09 meq/kg and 34.52 mg/kg, respectively, at the 3rd day and 5th day. In addition, the main volatile components of the UHT-enabled wall-breaking pine pollen increased steadily during storage, with the changes of hexanal and hexanoic acid being the most significant (reaching 12.69 $\mu\text{g/g}$ and 10.51 $\mu\text{g/g}$, respectively after 5 days). These results indicated that the off-flavor of UHT-enabled wall-breaking pine pollen was produced mainly *via* lipid oxidation during storage, and the oxidation was more severe in the early stage of storage. Hexanal and caproic acid, the secondary oxidation products of oil oxidation, were the main volatile components of the wall-breaking pine pollen during storage, which also accounted for odor generation.

Key words: pine pollen; off-flavor; mechanism; oil oxidation

松花粉又名松黄, 是马尾松、油松或红松等雄球

收稿日期: 2019-07-15

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31571878)

作者简介: 赵巧丽 (1990-), 女, 博士生, 研究方向: 油脂与植物蛋白工程

通讯作者: 李进伟 (1972-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 油脂与植物蛋白工程

花上收集经干燥而成的花粉^[1], 外观呈乳黄色, 体部呈椭圆形或类圆形, 主体两侧列有肾形气囊状结构。松花粉含有蛋白质、脂质、多糖等营养物质和植物甾醇、类胡萝卜素、多酚、不饱和脂肪酸等 200 多种生物活性物质, 具有调节免疫、抗衰老、抗疲劳、降血糖等药理作用, 素有“超级微型浓缩营养库”, “绿色宝库中的黄金粉”等美誉, 是人类 21 世纪最理想的营养

源^[2-5]。与蜂花粉相比,松花粉具有花源单一、纯度高、成分稳定和无农药残留物等优点,在国内外已被广泛用于保健品、药品、化妆品和饲料添加剂等领域。为提高营养成分的生物利用率,松花粉在灭菌处理后,往往需要进行破壁处理^[6],但破壁松花粉在储藏过程中极易发生劣变,产生令人不愉快的气味,极大地降低了松花粉的食用品质和营养价值。因此,探究松花粉的异味产生机制,寻求有效的异味控制方法或措施,对提高松花粉的储藏品质、促进松花粉的开发利用、延长松花粉的市场供应期具有重要的现实意义。

目前,国内外有关松花粉的研究主要集中在活性成分提取、功能特性分析及加工产品研发上,有关松花粉中的挥发性成分特别是破壁松花粉中异味产生机制的研究还未见报道^[7-9]。松花粉脂肪含量较高,本课题组前期研究发现其粗脂肪含量高于4%,故推测破壁松花粉储藏过程中的气味劣变可能与油脂氧化产生的醛类化合物等次级氧化产物有关^[10]。为验证此推测,本文拟研究UHT破壁松花粉储藏过程中营养成分(粗蛋白、粗脂肪、总糖、游离脂肪酸、氨基酸、脂肪酸组成)、常见氧化指标(过氧化值、硫代巴比妥酸值)和挥发性成分的变化情况,并分析破壁松花粉的异味与脂质氧化之间的联系及其主要异味成分,旨在初步探索破壁松花粉储藏过程中异味产生的机制。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与试剂

原松花粉(水分含量<6%),超高温瞬时灭菌(UHT)破壁松花粉,均由烟台新时代健康产业有限公司提供,储藏于40℃培养箱中,分别于第0、1、3、5、8、12、16、20、25、30 d取样,进行相关指标测定。

正己烷、异辛烷等,均为分析纯,购自国药集团化学试剂有限公司;C13脂肪酸甲酯、脂肪酸甲酯混标、己醛、己酸、氨基酸标准品等,购自上海斯信生物科技有限公司。

1.2 仪器设备

FOX 4000 Heracles II型快速气相色谱电子鼻,法国Alpha MOS S.A.有限公司;气相色谱仪,安捷伦科技(中国)有限公司;三重四级杆气质联用仪,美国Waters公司;PS-10超声波清洗机,东莞洁康设备有限公司;5810 R离心机,德国艾本德公司;UVmini-1240紫外分光光度计,日本岛津公司;HH-4数显恒温水浴锅,江苏省金坛市荣华仪器制造有限公司;RE-52A旋转蒸发器,上海亚荣生化仪器厂;

YQ100-1气流粉碎机,上海赛山机械公司。

1.3 实验方法

1.3.1 UHT破壁松花粉储藏前后基本营养成分的测定

水分含量的测定参照GB 5009.3-2016中的直接干燥法进行测定;粗蛋白、粗脂肪含量分别参照GB 5009.5-2016和GB 5009.6-2016中的方法进行测定;总糖含量参照文献^[11]的方法采用蒽酮-比色法测定;游离脂肪酸含量参照文献^[12]的方法测定。

1.3.2 UHT破壁松花粉储藏前后脂肪酸组成的测定

采用气相色谱法测定松花粉脂质的脂肪酸组成,参照Fireston等^[13]的方法进行甲酯化并稍作调整。以十三烷酸甲酯作内标,将少许油样用5 mL 2% NaOH-甲醇溶液溶解,75℃回流20 min,随后加入10 mL 25%三氟化硼甲醇溶液,再经75℃回流5 min,加入5 mL蒸馏水冷却至室温,用10 mL正己烷萃取,取上清液过滤后上机分析。

气相色谱条件:石英毛细管柱(60 m×0.25 mm×0.25 μm);进样口温度220℃;程序升温为起始温度60℃,先以5℃/min升温至175℃,保持10 min,再以2℃/min升温至220℃。检测器(FID)温度250℃;载气为高纯氮气,分流比100:1,流速1.0 mL/min;进样体积1 μL。对照标准样品的保留时间进行脂肪酸定性,然后采用面积归一法定量。

1.3.3 UHT破壁松花粉储藏前后氨基酸含量的测定

游离氨基酸:将1.0 g样品用5%的TCA溶解定容至25 mL,混匀,超声20 min后静置2 h,以15000 r/min离心30 min。取400 μL上清液用0.22 μm水膜过滤后待测。

酸水解氨基酸:取100.0 mg样品,加入8 mL 6 mol/L HCl,氮气封管后于120℃水解22 h。水解结束后用10 mol/L NaOH中和,蒸馏水定容至25 mL,以15000 r/min离心30 min,取400 μL上清液过0.22 μm水膜后待测。

采用氨基酸自动分析仪分别进行游离氨基酸和酸水解氨基酸的定性定量分析。

1.3.4 UHT破壁松花粉储藏过程中挥发性成分的分析

1.3.4.1 快速气相电子鼻检测

取2.00 g样品置于20 mL顶空瓶中,加盖密封后室温下静置60 min,通过顶空进样的方式检测。程序设置:载气为净化空气;流速150 mL/min;孵化温

度 50 °C, 孵化顶空加热温度 50 °C, 加热时间 1200 s; 检测器温度 260 °C, 程序升温速度 12 °C/min; 进样针温度 40 °C; 数据采集时间 120 s; 为保证结果的准确性, 每个样品重复测定四次。

1.3.4.2 SPME-GC-MS 分析

采用顶空固相微萃取技术对各样品风味物质进行提取: 将萃取头在气相色谱的进样口老化, 老化温度为 250 °C, 载气流量为 0.8 mL/min, 老化时间 2 h。取 0.8 g 样品在 50 °C 吸附 30 min, 250 °C 不分流模式解吸 5 min, 采用 GC-MS 测定挥发性氧化产物。

气相色谱条件: DB-wax 色谱柱, N₂ 为高纯载气, 流量 1.0 mL/min; 进样口温度 250 °C; 程序升温为 45 °C 保持 2 min, 以 3 °C/min 升至 180 °C, 维持 5 min, 再以 10 °C/min 升至 240 °C, 保留 7 min。质谱条件: 电离方式电子轰击离子源 (EI), 离子源温度 240 °C, 四极杆温度 150 °C, 传输线温度 240 °C; 电子能量 70 eV, 电子倍增器电压 1500 V; 质量扫描范围 m/z 33~400。

挥发性成分的鉴定基于外标法及与 WILEY 8.0 和 NIST 14 谱库进行比对, 仅对正反相似度均大于 800 (最大值 1000) 的鉴定结果予以分析, 相对百分含量采用面积归一化法计算, 定量分析采用内标法。

1.3.5 UHT 破壁松花粉储藏过程中脂质氧化指标的测定

松花粉储藏过程中游离脂肪酸含量参照文献[12]的方法测定; 过氧化值参照 GB 5009.227-2016 中的硫代硫酸钠滴定法测定; 硫代巴比妥酸值的测定参照 GB 5009.181-2016 的方法。

1.4 数据处理

试验数据采用 SPSS 13.0 软件进行统计及分析, 显著性检验取 95% 置信区间。实验结果采用 Origin 8.0 软件进行图像绘制与曲线拟合。电子鼻数据分析: 运用 Winmuster 软件对数据进行主成分分析 (PCA) 和判别因子分析 (DFA)。

2 结果与分析

2.1 UHT 破壁松花粉储藏前后营养成分的变化

2.1.1 基本组成成分的变化

图 1 对比分析了 UHT 破壁松花粉在 40 °C 储藏 30 d 后粗蛋白、粗脂肪、总糖、水分和游离脂肪酸含量的变化, 旨在探究与破壁松花粉储藏期间异味产生相

关的主要化学成分。由图 1 可知, 与对照相比, 储藏 30 d 后破壁松花粉中粗脂肪含量降低 31.37%, 游离脂肪酸含量升高 38.78%, 且差异显著 ($p < 0.05$), 而粗蛋白、总糖和水分含量无显著变化 ($p > 0.05$)。说明 UHT 破壁松花粉中的脂质在储藏过程中可能发生了一定程度的氧化酸败。张亚荣等^[14]在研究加速陈化对粳稻营养成分及储藏和加工品质影响时发现, 储藏过程对稻米粗蛋白含量无明显影响, 而粗脂肪含量在储藏期间整体呈现下降趋势, 可能是由于储藏过程中稻谷中的脂肪由于脂肪酶作用和周围环境中脂类的水解或氧化而减少。该报道与本研究结果相似。

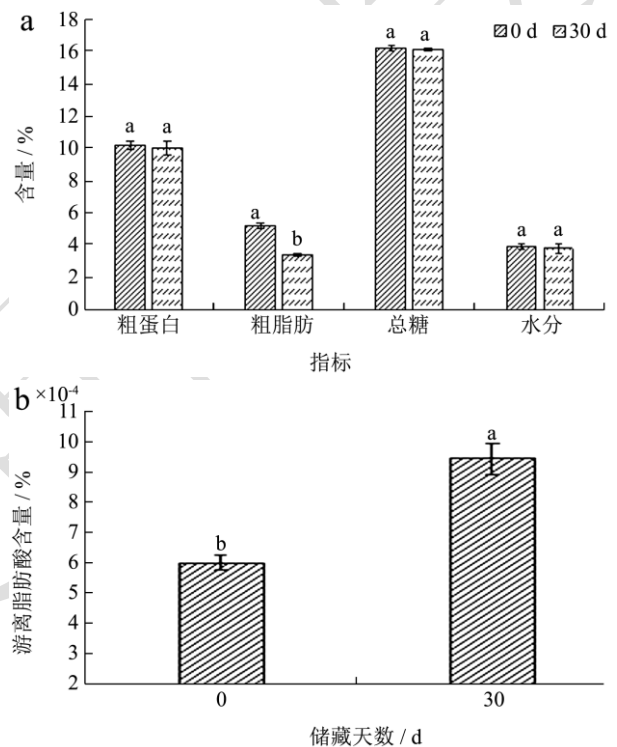


图 1 UHT 破壁松花粉储藏前后基本组成成分的变化

Fig.1 Changes of basic components of UHT wall-breaking pine pollen before and after storage

注: 标有不同字母表示组内差异显著 ($p < 0.05$), 标有相同字母表示组内差异不显著 ($p > 0.05$)。图 4 同。

2.1.2 脂肪酸与氨基酸组成及含量的变化

通过 GC 对储藏 30 d 的 UHT 破壁松花粉中脂肪酸组成进行分析得到表 1。由表 1 可以看出, 储藏 30 d 后, 破壁松花粉中饱和脂肪酸含量显著升高, 不饱和脂肪酸尤其是多不饱和脂肪酸含量显著降低。其中, 不饱和脂肪酸中的 C_{18:1} (油酸) 和 C_{18:2} (亚油酸) 的相对含量均从原来的 42.58% 和 15.94% 降低至 37.08% 和 5.44%, 降低比例分别为原来的 12.92% 和 65.87%; 而饱和脂肪酸中的 C_{16:0} (棕榈酸) 和 C_{20:0} (花生酸) 的相对含量分别从原来的 28.60% 和 3.21% 升高至 32.60% 和 4.61%, 升高比例分别为原来的 13.98% 和

43.61%。这主要是因为饱和脂肪酸较稳定,不易被氧化,而不饱和脂肪酸极易在光线、氧气等的作用下发生氧化作用生成氢过氧化物,氢过氧化物又裂解为低分子醛、酮、酸等有哈喇味的产物,导致脂肪氧化酸败;由于不饱和脂肪酸油酸和亚油酸的相对含量降低,使得饱和脂肪酸棕榈酸和花生酸的相对含量呈现上升趋势。陈光静等^[10]在研究薏米储藏期间异味产生机制时发现,随着储藏时间的延长,薏米油脂中油酸和亚油酸的相对含量分别从原来的 50.36%和 32.54%降低到 47.69%和 27.73%,而棕榈酸和花生酸的相对含量均逐渐升高。该报道与本研究结果保持一致。

通过氨基酸自动分析仪对储藏 30 d 的 UHT 破壁松花粉中氨基酸组成及含量进行分析得到表 2。由表 2 可知,储藏 30 d 后,破壁松花粉中游离氨基酸和酸水解氨基酸的氨基酸种类未发生改变,部分氨基酸相对含量有所降低,但变化较小;此外,破壁松花粉中游离氨基酸总量从 10.15 mg/g 降至 8.95 mg/g,酸水解氨基酸从 83.34 mg/g 降至 79.01 mg/g,但均与对照组差异不显著 ($p>0.05$),说明破壁松花粉中氨基酸在储藏过程中损失较少。结合图 1 的结果,破壁松花粉储藏 30 d 后其粗蛋白和总糖含量无显著降低,说明蛋白质、糖类或氨基酸参与的蛋白质氧化或美拉德反应对破壁松花粉在储藏过程中的异味产生贡献较小。

表 1 UHT 破壁松花粉储藏前后脂肪酸组成

Table 1 Fatty acids compositions of UHT wall-breaking pine pollen before and after storage (%)

脂肪酸种类	储藏时间/d	
	0	30
C _{14:0}	0.31±0.05 ^b	0.45±0.01 ^a
C _{16:0}	28.60±1.42 ^b	32.60±1.53 ^a
C _{16:1}	0.33±0.06 ^a	0.13±0.01 ^b
C _{18:0}	3.86±0.10 ^b	15.86±0.32 ^a
C _{18:1}	42.58±1.34 ^a	37.08±2.01 ^b
C _{18:2}	15.94±1.70 ^a	5.44±1.00 ^b
C _{18:3 (n-6)}	1.28±0.20 ^a	0.28±0.08 ^b
C _{18:3 (n-3)}	0.38±0.12 ^a	0.08±0.03 ^b
C _{20:0}	3.21±0.14 ^b	4.61±0.21 ^a
C _{20:1}	0.55±0.08 ^a	0.15±0.07 ^b
C _{22:0}	0.54±0.12 ^b	1.08±0.13 ^a
C _{24:0}	0.82±0.06 ^a	0.61±0.05 ^b
SFAs	37.34±1.89 ^b	55.21±2.25 ^a
UFAs	61.05±3.50 ^a	43.16±3.20 ^b
MUFAs	43.46±2.02 ^a	37.36±1.11 ^b
SFAs/PUFAs	2.12	9.52

注:同一行中标有不同字母表示组间显著性差异($p<0.05$),标有相同字母表示组间差异不显著($p>0.05$)。表 2 同。

表 2 UHT 破壁松花粉储藏前后氨基酸含量变化

Table 2 Changes of amino acids of UHT wall-breaking pine pollen before and after storage (mg/g)

氨基酸种类	游离氨基酸		酸水解氨基酸	
	0 d	30 d	0 d	30 d
天冬氨酸	0.41±0.04 ^b	0.49±0.07 ^b	8.89±0.41 ^a	8.25±0.52 ^a
谷氨酸	0.60±0.22 ^b	0.62±0.10 ^b	13.54±0.60 ^a	12.94±1.32 ^a
丝氨酸	0.36±0.01 ^b	0.20±0.01 ^b	3.92±0.36 ^a	3.71±0.10 ^a
组氨酸	0.28±0.01 ^b	0.26±0.03 ^b	2.42±0.28 ^a	2.42±0.58 ^a
甘氨酸	0.17±0.01 ^b	0.13±0.02 ^b	4.90±0.17 ^a	4.85±0.13 ^a
苏氨酸	0.27±0.01 ^b	0.23±0.02 ^b	3.06±0.27 ^a	3.07±0.23 ^a
精氨酸	1.89±0.57 ^b	1.79±0.35 ^b	6.37±1.89 ^a	6.04±1.42 ^a
丙氨酸	0.57±0.07 ^b	0.55±0.11 ^b	4.03±0.01 ^a	3.41±0.65 ^a
酪氨酸	0.55±0.09 ^b	0.49±0.15 ^b	2.71±0.55 ^a	3.06±0.49 ^a
半胱氨酸	0.02±0.01 ^b	0.02±0.01 ^b	0.25±0.02 ^a	0.31±0.01 ^a
缬氨酸	0.23±0.06 ^b	0.20±0.01 ^b	5.56±0.23 ^a	5.58±0.20 ^a
甲硫氨酸	0.29±0.01 ^b	0.24±0.02 ^b	2.13±0.29 ^a	1.01±0.14 ^a
苯丙氨酸	0.18±0.05 ^b	0.14±0.03 ^b	3.83±0.18 ^a	3.48±0.14 ^a
异亮氨酸	0.29±0.02 ^b	0.30±0.01 ^b	4.61±0.29 ^a	4.64±0.35 ^a
亮氨酸	0.19±0.01 ^b	0.16±0.02 ^b	6.23±0.19 ^a	6.22±0.12 ^a
赖氨酸	0.53±0.08 ^b	0.51±0.11 ^b	5.01±0.53 ^a	4.94±0.41 ^a
脯氨酸	3.40±0.42 ^b	3.52±0.34 ^b	9.90±1.40 ^a	9.59±1.52 ^a
总量	10.15±1.69 ^b	8.95±1.41 ^b	83.34±7.67 ^a	79.01±8.32 ^a

2.2 UHT 破壁松花粉异味的识别与分析

2.2.1 快速气相电子鼻分析

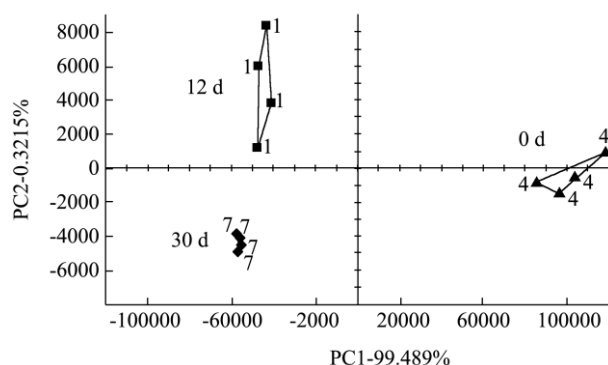


图2 40 °C储藏过程中的UHT 破壁松花粉的主成分分析图

Fig.2 Principal component analysis plot of UHT wall-breaking pine pollen during storage at 40 °C

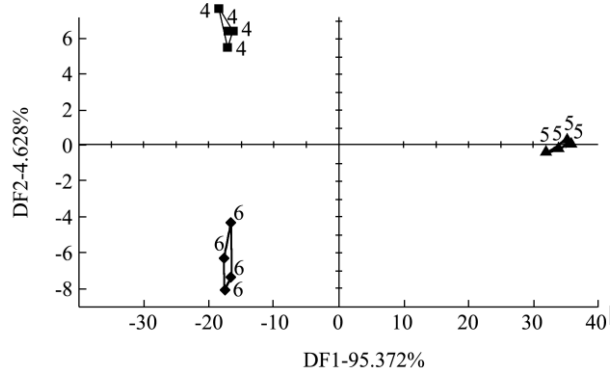


图3 40 °C储藏过程中UHT 破壁松花粉的判别因子分析图

Fig.3 Analysis of discriminant factors of UHT wall-breaking pine pollen during storage at 40 °C

通过快速气相电子鼻分别采集 40 °C 下储藏 0 d (无异味)、12 d (弱异味) 和 30 d (强异味) 的 UHT 破壁松花粉的风味数据, 并将数据进行 PCA 和 DFA 分析, 结果见图 2 和图 3 所示。由图 2 可知, 第一主成分 (PC₁) 的贡献率为 99.49%, 第二主成分 (PC₂) 的贡献率为 0.32%, 总贡献率为 99.81%, 说明 PC₁ 和 PC₂ 共解释了原始变量 99.81% 的信息, 能够代表传感器的原始信息, 反应破壁松花粉在储藏过程中气味的变化。在图 2 中, 同组样品的数据采集点聚集在同一区域, 而不同样品数据采集点分散在不同区域, 表明破壁松花粉在储藏过程中挥发性气味在 PC₁ 和 PC₂ 上具有显著差异^[15]。

DFA 分析中, 样品在横纵坐标单向距离代表了样品间差异性的大小, 两样品间单向横向距离越大, 表明样品间差异较大; 反之则差异较小^[16]。有报道称, 超过 70%~85% 的总体贡献率可以进行试验检测^[16]。图 3 中, 第一区分指数 (DF₁) 的贡献率为 95.37%, 第二分区 (DF₂) 为 4.62%, 二者累积 99.99%, 表明

DF₁ 和 DF₂ 已包含大量信息, 能够反映样品整体差异信息。从纵坐标距离上分析, 储藏 12 d 和 30 d 的破壁松花粉二者间纵坐标距离最小, 但与储藏 0 d 的破壁松花粉之间距离较大, 说明储藏 12 d 和 30 d 的破壁松花粉风味较相似, 且与储藏 0 d 的破壁松花粉风味差异较大。

2.2.2 破壁松花粉气味 GC-MS 分析

为进一步分析 UHT 破壁松花粉在储藏过程中产生的挥发性成分的组成, 分别对储藏 30 d 的原松花粉和破壁松花粉进行 GC-MS 分析, 结果见表 3。由表 3 可知, 储藏 30 d 后, UHT 破壁松花粉中挥发性成分总量由 29.87×10^{-6} 增加到 72.40×10^{-6} , 其中醛类由 12.04×10^{-6} 增加到 27.01×10^{-6} , 酸类由 9.67×10^{-6} 增加至 21.83×10^{-6} , 酮类由 1.95×10^{-6} 增加至 6.70×10^{-6} , 醇类则由 6.21×10^{-6} 增加至 10.95×10^{-6} ; 此外, 储藏 30 d 的 UHT 破壁松花粉中挥发性成分总量比原松花粉和储藏 30 d 的原松花粉分别高出 86.89% 和 68.90%。

从未储藏和储藏 30 d 的原松花粉和 UHT 破壁松花粉中共检出 27 种挥发性物质, 主要由醛类、酸类、酮类和醇类等组成, 其中原松花粉中 16 种, 储藏 30 d 的原松花粉中 27 种, UHT 破壁松花粉中 26 种, 储藏 30 d 的 UHT 破壁松花粉中 27 种; 在 27 种风味物质中, 醛类和醇类的相对含量较高; 其中, 己醛、戊醛、辛醛、己酸、1-辛烯-3-醇为储藏前后原松花粉和 UHT 破壁松花粉中共同的挥发性成分, 且己醛和己酸在各组松花粉中占比较大, 为主要的异味物质; 储藏 30 d 后, UHT 破壁松花粉中己醛和己酸含量分别从 3.26×10^{-6} 和 6.52×10^{-6} 增加至 5.73×10^{-6} 和 14.26×10^{-6} , 是破壁松花粉中的主要差异物质。已有文献报道己醛是富含油脂及以油脂为基质的食品氧化产生的主要醛类物质, 目前已被作为监测肉、胡萝卜和番茄等低脂食品^[17]、婴儿配方奶粉^[18]、薯片^[19]、饼干^[20]和橄榄油^[21]中脂质氧化程度的主要指标。除醛类外, 低分子有机酸也在破壁松花粉的挥发性成分中被大量检出, 其含量仅次于醛类。已有研究证实乙酸、缬草酸、己酸等有机酸是杏仁脂质氧化的次级产物^[22], 而挥发性成分中的辛酸, 庚酸, 壬酸则可能是通过相关不饱和醛 (如 2,4-癸二烯醛) 的氧化产生^[23]。在所有有机酸中, 己酸大量存在于储藏 30 d 的 UHT 破壁松花粉中, 其含量高达 14.26×10^{-6} , 甚至超过了己醛的含量。Anna-Maija Lampi 等^[24]研究表明己酸是挤压燕麦发生严重脂质氧化后产生的主要挥发性产物, 也是判断谷物食品是否发生脂质氧化的判定指标。另有报道已鉴定出己酸和己醛是挤压燕麦中脂质氧化的主要挥发性产物^[25]。

表 3 40 °C 储藏过程中破壁松花粉挥发性物质的种类和相对含量

Table 3 Species and relative content of volatile compounds in wall-breaking pine pollen during storage at 40 °C ($\times 10^{-6}$)

类别	挥发物名称	原松花粉		UHT 破壁松花粉	
		0 d	30 d	0 d	30 d
醛类 (10 种)	己醛	0.13±0.01 ^d	0.56±0.02 ^c	3.26±0.12 ^b	5.73±0.15 ^a
	戊醛	0.31±0.03	0.53±0.05	1.91±0.21	4.18±0.27
	壬醛	1.37±0.11	1.73±0.13	1.11±0.15	3.57±0.18
	庚醛	0.63±0.05	0.87±0.03	1.43±0.05	1.71±0.13
	辛醛	1.02±0.06	1.97±0.17	2.30±0.17	4.07±0.28
	癸醛	0.36±0.02	0.60±0.02	0.24±0.05	1.01±0.07
	E-2-辛烯醛	0.31±0.01	0.86±0.03	0.58±0.16	4.08±0.19
	2,4-癸二烯醛	-	0.16±0.01	0.14±0.05	0.49±0.01
	E-2-庚烯醛	0.26±0.01	0.52±0.04	0.91±0.02	1.30±0.08
	2-丁基-2-辛烯醛	-	0.55±0.01	0.16±0.01	0.87±0.03
	总量	4.39±0.39 ^d	8.35±0.51 ^c	12.04±1.07 ^b	27.01±1.33 ^a
酸类 (5 种)	己酸	0.60±0.03 ^d	1.26±0.10 ^c	6.52±0.34 ^b	14.26±1.05 ^a
	戊酸	-	0.51±0.05	0.58±0.05	1.53±0.05
	辛酸	-	0.14±0.03	0.46±0.05	0.96±0.05
	庚酸	-	0.44±0.05	0.32±0.05	1.64±0.07
	壬酸	0.46±0.02	1.18±0.16	1.79±0.11	3.44±0.17
	总量	1.06±0.05 ^d	3.53±0.39 ^c	9.67±0.80 ^b	21.83±1.39 ^a
酮类 (6 种)	2-癸酮	-	0.16±0.01	-	0.29±0.02
	2-辛酮	-	0.25±0.01	0.06±0.01	0.46±0.01
	2-庚酮	-	0.18±0.01	0.10±0.05	1.76±0.12
	2-壬酮	-	0.31±0.02	0.34±0.04	0.74±0.02
	3-壬烯-2-酮	-	0.23±0.01	0.99±0.06	2.25±0.15
	3-辛烯-2-酮	0.22±0.01	0.37±0.02	0.46±0.01	1.20±0.03
	总量	0.22±0.01 ^d	1.50±0.08 ^c	1.95±0.17 ^b	6.70±0.35 ^a
醇类 (4 种)	正壬醇	0.10±0.01	0.79±0.01	1.19±0.08	2.43±0.24
	正戊醇	0.72±0.12	2.05±0.17	1.77±0.15	2.86±0.21
	正辛醇	0.71±0.08	1.75±0.11	1.06±0.09	2.10±0.16
	1-辛烯-3-醇	1.54±0.10	2.27±0.26	2.29±0.14	3.56±0.27
	总量	3.07±0.31 ^c	6.86±0.54 ^b	6.21±0.46 ^b	10.95±0.88 ^a
脂类 (1 种)	γ -丁内酯	0.18±0.01	0.72±0.01	0.26±0.05	1.76±0.02
其他 (1 种)	2-正戊基咪喃	0.57±0.02	1.54±0.02	1.09±0.05	4.15±0.03
总挥发性物质		9.49±0.79 ^d	22.50±1.55 ^c	29.87±2.40 ^b	72.40±3.00 ^a

注：“-”表示未检出；标有不同字母表示组内差异显著 ($p < 0.05$)，标有相同字母表示组内差异不显著 ($p > 0.05$)。

为进一步证实 UHT 破壁松花粉在储藏过程中的异味产生与脂质氧化有关，将其脱脂后进行加速储藏实验，检测储藏前后挥发性成分的变化，结果见图 4 所示。由图 4 可知，未经过脱脂处理时，与对照组相比，储藏 30 d 的 UHT 破壁松花粉中醛类、酸类、酮类和醇类含量分别增加 55.42%、55.70%、70.89% 和 42.28%，且挥发性成分总量增加 58.74%；经过脱脂处理后，与对照组相比，储藏 30 d 的 UHT 破壁松花粉

中醛类、酸类、酮类和醇类含量分别增加 37.16%，28.60%，0.20% 和 4.08%，且挥发性成分总量增加 24.52%，但二者差异不显著 ($p > 0.05$)；与未脱脂储藏 30 d 的破壁松花粉相比，脱脂储藏 30 d 的松花粉中醛类、酸类、酮类和醇类含量分别降低 91.63%、80.62%，6.46% 和 82.10%，且挥发性成分总量降低 87.99%。说明破壁松花粉在储藏过程中异味的产生，可能来自于松花粉中的脂质氧化。

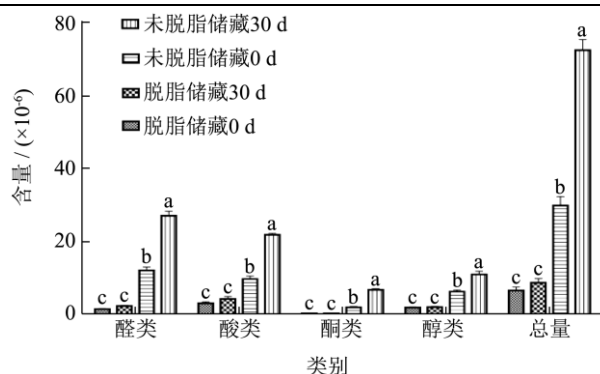


图4 UHT 破壁松花粉在脱脂前后各类挥发性成分及其总量的变化

Fig.4 Changes of volatile components and their total amounts in UHT wall-breaking pine pollen before and after defatting

2.3 UHT 破壁松花粉储藏过程中脂质氧化的研究

2.3.1 游离脂肪酸 (FFA) 含量的变化

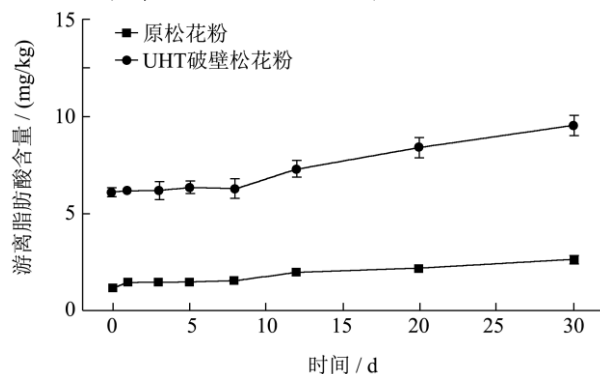


图5 UHT 破壁松花粉在 40 °C 储藏过程中游离脂肪酸含量的变化

Fig.5 Changes of free fatty acids contents in UHT wall-breaking pine pollen during storage at 40 °C

图5显示了原松花粉和UHT破壁松花粉在储藏过程中游离脂肪酸含量的变化。由图5可知,随着储藏时间的延长,原松花粉和UHT破壁松花粉中FFA含量均逐渐增加。储藏前期(8d)脂肪水解缓慢,FFA含量缓慢增加,8d后脂肪水解速度急剧增加,FFA含量增加速度加快,在储藏末期达到最大值。在整个储藏过程中,UHT破壁松花粉中FFA含量从6.07 mg/kg增加到9.53 mg/kg,显著高于原松花粉(从1.19 mg/kg增加到2.60 mg/kg),说明UHT破壁松花粉中残余脂肪酶活性较高。FFA主要由油脂水解产生,与松花粉的含水量有关,而含水量能显著影响松花粉中脂肪酶活性,脂肪酶又能水解油脂生成FFA,由于UHT破壁松花粉的细胞结构被破坏,增加了与水 and 氧气接触的机会,从而导致UHT破壁松花粉中FFA含

量显著增加^[26]。通常,甘油酯的分解会导致FFA含量增加,而FFA中不饱和脂肪酸的氧化分解又会降低其含量,UHT破壁松花粉中FFA含量增高说明FFA的生成速度要显著高于其降解速度。Rose等^[27]也得到了类似结果,相比于干热灭酶,蒸汽处理能更有效地降低脂肪酶活性。

2.3.2 过氧化值 (PV) 和硫代巴比妥酸 (TBARS) 值的变化

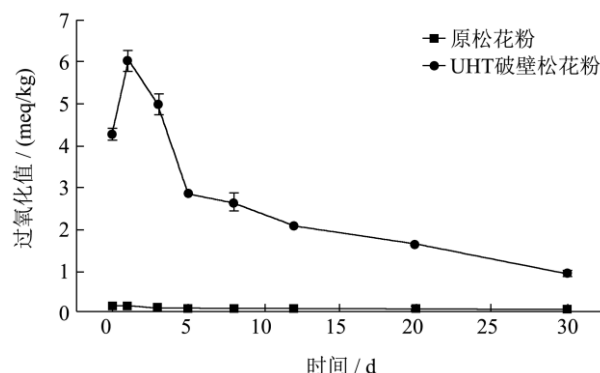


图6 UHT 破壁松花粉在 40 °C 储藏过程中过氧化值的变化

Fig.6 Changes of peroxide value of UHT wall-breaking pine pollen during storage at 40 °C

过氧化值是衡量油脂氧化酸败的重要指标,但只能反映脂肪酸初期氧化的程度。通常,过氧化值越高其酸败就越厉害。由图6可知,原松花粉的初始过氧化值较低,且在储藏期间变化不大,表明原花粉具有良好的抗脂质氧化能力;UHT破壁松花粉的PV值在储藏前3d显著增加,第3d时达到最大值6.09 meq/kg,储藏3d后PV值则逐渐下降,表明氢过氧化物在松花粉脂质氧化过程中先积累后减少。食品体系发生脂质氧化,首先是氢过氧化物的生成和积累,即表现为过氧化值的增加,而过氧化值的降低则是氢过氧化物逐渐降解生成二级产物的结果。刘辉鸿在研究罗非鱼冻藏期间PV值变化时也得出类似结果^[28]。

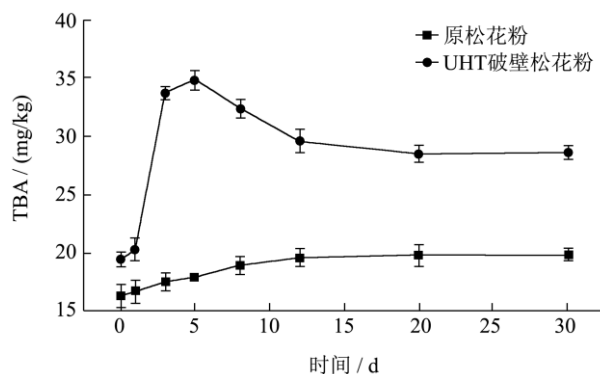


图7 UHT 破壁松花粉在 40 °C 储藏过程中硫代巴比妥酸值的变化

Fig.7 Changes of thiobarbituric acid value of UHT wall-breaking pine pollen during storage at 40 °C

不饱和脂肪酸的二级氧化产物醛类, 可与硫代巴比妥酸生成有色化合物, 在 532 nm 处有最大吸收峰。通过硫代巴比妥酸值 (TBARS) 可以反映脂肪被氧化的程度。UHT 破壁松花粉在储藏过程中 TBARS 值的变化如图 7 所示。由图 7 可知, 在储藏前 5 d 内, UHT 破壁松花粉的 TBARS 值迅速升高, 并在第 5 d 时达到最大值 34.52 mg/kg, 此后继续延长储藏时间, TBARS 值开始逐渐降低, 储藏 12 d 后 TBARS 值基本保持不变。这可能是由于在脂肪氧化初期, UHT 破壁松花粉中氢过氧化物快速分解生成了丙二醛 (MDA), 随着储藏时间的延长, 破壁松花粉的活力逐渐丧失, 从而减缓了 MDA 的生成量, 且持续的高温可能会引起部分 MDA 的挥发, 从而导致其含量降低^[29]。刘辉鸿等^[28]在研究冻藏期间罗非鱼腥味变化机理时发现, 冻藏期间罗非鱼的 TBARS 值不断增加, 且在冻藏后期 (9 d 后) 增幅较快, 该报道与本研究结果相悖论, 可能是因二者的研究体系、氧化诱导条件和时间不同所致。

2.3.3 异味物质含量的变化

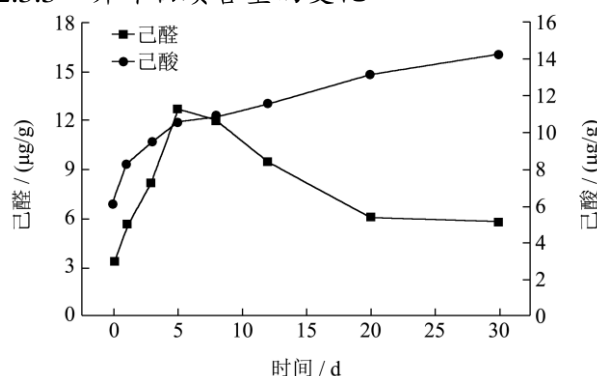


图 8 UHT 破壁松花粉在 40 °C 储藏过程中己醛和己酸含量的变化

Fig.8 Changes of hexanal and caproic acid contents in UHT wall-breaking pine pollen during storage at 40 °C

上述研究已证实己醛和己酸是 UHT 破壁松花粉在储藏 30 d 后脂质氧化产生的主要挥发性成分, 跟踪监测二者在储藏过程中的具体变化趋势, 结果见图 8 所示。由图 8 可知, 随着储藏时间的延长, UHT 破壁松花粉中己醛含量呈先升高后降低趋势, 并在第 5 d 时达到最大值 12.69 µg/g, 20 d 后基本保持不变; 己酸含量随着储藏时间的延长逐渐增大, 且在储藏前 5 d 内增幅较大, 5 d 后己酸含量增大速度逐渐变缓。说明相对于己醛, 己酸能更好的反映 UHT 破壁松花粉在储藏期间脂质氧化的程度。此外, 储藏 30 d 的原松花粉中己醛和己酸含量分别为 0.56 µg/g 和 1.26 µg/g (表 3), 仍处于较低水平, 这可能是由于原松花粉完整的细胞结构对脂质氧化具有一定的缓解作用。综上所述, UHT 破壁松花粉异味的产生是由脂质氧化所引起, 且

己醛和己酸等低分子酮醛酸是其产生异味的一个重要原因。与 UHT 破壁松花粉相比, 原松花粉中的脂质在储藏过程中具较好稳定性。杨忠全等^[30]在对比新鲜薏仁米和异味薏仁米挥发性成分时也发现类似结果, 异味薏仁米的主要挥发性成分为己醛和己酸, 造成新鲜薏仁米和异味薏仁米挥发性成分种类和含量差异的主要原因为新鲜薏仁米在储藏过程中的油脂氧化。

3 结论

UHT 破壁松花粉在储藏 30 d 后, 脂肪、不饱和脂肪酸相对含量分别降低 31.37%、14.03%, 游离脂肪酸、饱和脂肪酸相对含量分别升高 38.78%、32.34%, 粗蛋白、总糖和氨基酸含量未发生明显变化; 储藏前期, UHT 破壁松花粉中游离脂肪酸含量增幅较缓, 储藏 8 d 后迅速升高, 并在 30 d 时达到 9.53 mg/kg; 随储藏时间延长, UHT 破壁松花粉的过氧化值和硫代巴比妥酸值均先升高后降低, 并在储藏 3 d 和 5 d 时分别达到最大值 6.09 meq/kg 和 34.52 mg/kg, 表明 UHT 破壁松花粉在储藏前期发生强烈氧化反应; 此外, UHT 破壁松花粉储藏期挥发性成分总量显著升高, 且以己醛和己酸含量增加最为显著, 储藏 5 d 后己醛、己酸含量分别增至 12.69、10.51 µg/g, 5 d 后己醛含量逐渐降低, 己酸含量仍缓慢增加。说明 UHT 破壁松花粉在储藏中产生的异味主要由油脂氧化产生, 且油脂的二级氧化产物己醛和己酸为破壁松花粉储藏过程中产生的主要挥发性成分, 是其产生异味的一个重要原因。

参考文献

- [1] Basim E, Basim H, Özcan M. Antibacterial activities of Turkish pollen and propolis extracts against plant bacterial pathogens [J]. Journal of Food Engineering, 2006, 77(4): 992-996
- [2] Mao G X, Zheng L D, Cao Y B, et al. Antiaging effect of pine pollen in human diploid fibroblasts and in a mouse model induced by D-galactose [J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2012, 2: 1-10
- [3] 邓倩, 童珊珊, 丁丽霞, 等. 松花粉活性成分分析及药理作用的研究进展[J]. 药物分析杂志, 2012, 32(1): 173-178
DENG Qian, TONG Shan-shan, DING Li-xia, et al. Research progress in the analysis methods of functional components in pine pollen and its biological activities [J]. Journal of Drug Analysis, 2012, 32(1): 173-178
- [4] 刘嘉宝, 范国栋, 冯武. 云南松花粉中黄酮类成分研究初报 [J]. 云南林业科技, 2001, 2: 67-70
LIU Jia-bao, FAN Guo-dong, FENG Wu. Preliminary report

- on flavone substances in pollen of yunnan pine [J]. Journal of West China Forestry Science, 2001, 2: 67-70
- [5] Choi E M. Antinociceptive and antiinflammatory activities of pine (*Pinus densiflora*) pollen extract [J]. Phytotherapy Research, 2007, 21(5): 471-475
- [6] 阮伟万,陈前进.破壁前后的松花粉质量鉴别研究[J].中国药物经济学,2016,11(3):14-16
RUAN Wei-wan, CHEN Qian-jin. Study on quality identification of pine pollen before and after wall-breaking [J]. China Journal of Pharmaceutical Economics, 2016, 11(3): 14-16
- [7] Lee K H, Kim A J, Choi E M. Antioxidant and antiinflammatory activity of pine pollen extract *in vitro* [J]. Phytotherapy Research, 2010, 23(1):41-48
- [8] Geng Y, Xing L, Sun M, et al. Immunomodulatory effects of sulfated polysaccharides of pine pollen on mouse macrophages [J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2016, 91: 846-855
- [9] Mehrdad K, Mojtaba M S, Zeinab K F, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using pine pollen and evaluation of the antifungal efficiency [J]. Iranian Journal of Biotechnology, 2017, 15(2): 95-101
- [10] 陈光静,冉春霞,夏季,等.薏米贮藏过程中异味产生的机理[J].食品与发酵工业,2017,9:223-229
CHEN Guang-jing, RAN Chun-xia, XIA Ji, et al. Research on mechanism of off-flavor producing in adlay seeds during storage [J]. Food and Fermentation Industries, 2017, 9: 223-229
- [11] 李艳艳,郑萍.蒽酮-硫酸比色法测定松花粉中粗多糖的含量[J].云南师范大学学报(自然科学版),2017,37(4):58-63
LI Yan-yan, ZHENG Ping. Determination of crude polysaccharides in pine pollen by anthrone-sulphuric acid colorimetry [J]. Journal of Yunnan Normal University (Natural Sciences Edition), 2017, 37(4): 58-63
- [12] Kwon D Y, Rhee J S. A simple and rapid colorimetric method for determination of free fatty acids for lipase assay [J]. Journal of the American Oil Chemists' Society, 1986, 63(1): 89-92
- [13] Firestone D. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society [M]. AOCS Press, 1994
- [14] 张玉荣,周显青,刘敬婉.加速陈化对粳稻的营养组分及储藏、加工品质的影响[J].河南工业大学学报(自然科学版),2017,38(5):41-48
ZHANG Yu-rong, ZHOU Xian-qing, LIU Jing-wan. Effects of accelerated ageing on nutritional components and storage and processing quality [J]. Journal of Henan University of Technology (Natural Science Edition), 2017, 38(5): 41-48
- [15] 刘雅婷,王小凤,王颖,等.基于电子鼻/电子舌和 GC-MS 分析饲料中添加金枪鱼蒸煮液对巴马香猪猪肉气味和滋味的影响[J].食品工业科技,2019,6:1-11
LIU Ya-ting, WANG Xiao-feng, WANG Yin, et al. Electronic nose, electronic tongue and GC-MS for odor and Taste analysis of bama pork with Dietary tuna cooking liquid supplement [J]. Science and Technology of Food Industry, 2019, 6: 1-11
- [16] 李秀,桑潘婷, DAUDA S A A, 等.驴腿肉与其他畜腿肉挥发性风味物质差异研究[J].食品与机械,2019,7:1-10
LI Xiu, SANG Pan-ting, DAUDA S A A, et al. Comparative study on volatile flavor between donkey and other livestock leg meat [J]. Food & Machinery, 2019, 7: 1-10
- [17] Mutsokoti L, Panozzo A, Tongonya J, et al. Carotenoid stability and lipid oxidation during storage of low-fat carrot and tomato based systems [J]. LWT-Food Science and Technology, 2017, 80: 470-478
- [18] Guadalupe G L, Lagarda M J, Clemente G, et al. Monitoring of headspace volatiles in milk-cereal-based liquid infant foods during storage [J]. European Journal of Lipid Science and Technology, 2006, 108(12): 1028-1036
- [19] Sanches S A, Bernaldo R A, Hernandez L J, et al. Determination of hexanal as indicator of the lipidic oxidation state in potato crisps using gas chromatography and high-performance liquid chromatography [J]. Journal of Chromatography A, 2004, 1046(1): 75-81
- [20] Barden L, Vollmer D, Johnson D, et al. Impact of iron, chelators, and free fatty acids on lipid oxidation in low-moisture crackers [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2015, 63(6): 1812-1818
- [21] Kanavouras A, Coutelieri F A. Shelf-life predictions for packaged olive oil based on simulations [J]. Food Chemistry, 2006, 96(1): 48-55
- [22] Lee J, Xiao L, Zhang G, et al. Influence of storage on volatile profiles in roasted almonds (*Prunus dulcis*) [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2014, 62(46): 11236-11245
- [23] Frankel E N. Volatile lipid oxidation products [J]. Progress in Lipid Research, 1983, 22(1): 1-33
- [24] Paradiso V M, Summo C, Trani A, et al. An effort to improve the shelf life of breakfast cereals using natural mixed tocopherols [J]. Journal of Cereal Science, 2008, 47(2): 322-330

现代食品科技